Genetik und Biotechnologie der Histidin-Synthese, Ames-Test

Aufgaben

1 Die Aminosäure Histidin kann von dem Bakterium *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) selbst synthetisiert werden. Der Syntheseweg verläuft über insgesamt zehn Reaktionsschritte, die jeweils durch ein spezifisches Enzym katalysiert werden. Die Gene für diese Enzyme liegen benachbart auf der DNA des Histidin-Operons (his-Operon).

1.1 Zeichnen Sie die allgemeine Strukturformel einer Aminosäure und geben Sie die Namen der jeweiligen funktionellen Gruppen bzw. Substituenten an.

(6 BE)

1.2 Skizzieren Sie ein Operon-Modell und beschreiben Sie die Funktion der Strukturen in Ihrer Skizze. Vergleichen Sie dieses Modell mit der Struktur des his-Operons (Material 1).

(10 BE)

1.3 Werten Sie die Befunde aus Material 2 aus.

(5 BE)

1.4 Das Leader-Gen im his-Operon von *S. typhimurium* wird als Messgen für die Histidinkonzentration innerhalb der Zelle bezeichnet.
Ermitteln Sie die mRNA- sowie die Aminosäuresequenz aus Material 3 und zeigen Sie die Funktion des Leader-Gens auf (Material 4).

(10 BE)

1.5 Beschreiben und erläutern Sie das Regulationsprinzip beim his-Operon (Material 4).

(10 BE)

1.6 Die beim his-Operon vorliegende Form der Genregulation wird Attenuation genannt. Die Transkriptionskontrolle findet hier nicht auf DNA- sondern auf mRNA-Ebene statt.
Zeigen Sie zwei mögliche Vorteile dieser Form der Genregulation auf.

(4 BE)

1.7 Erklären Sie die Bedeutung der Regulation der Genaktivität für *S. typhimurium* am Beispiel des his-Operons.

(6 BE)

1.8 Aminosäuren können heutzutage in einem großen Maßstab biotechnologisch hergestellt werden. Hierzu verwendet man genetisch veränderte Bakterienstämme, beispielsweise von *Escherichia coli (E. coli)*, welche die Aminosäuren in großen Mengen produzieren und in das umgebende Nährmedium abgeben können.

1.8.1 Skizzieren Sie ein Plasmid, welches für die biotechnische Herstellung von Histidin in *E. coli* geeignet ist und erklären Sie die Funktion der jeweiligen Strukturen.

(10 BE)

1.8.2 Beschreiben Sie zwei Methoden zur Einschleusung rekombinanter Plasmide in Bakterienzellen.
(4 BE)

1.8.3 Um nach der Herstellung ein reines Produkt zu erhalten, muss das Nährmedium aufgereinigt werden.
Beschreiben und erläutern Sie das in Material 5 dargestellte Verfahren im Hinblick auf die Histidin-Produktion.
(6 BE)

2 Die Eigenschaft von *S. typhimurium* Histidin zu produzieren, findet auch in der wissenschaftlichen Forschung Anwendung. Beim sogenannten Ames-Test werden Mangelmutanten von *S. typhimurium* verwendet, welche die Fähigkeit zur Synthese von Histidin verloren haben. Diese werden eingesetzt um Mutagene, also Mutationen-induzierende Stoffe zu identifizieren. Solche Stoffe finden sich z. B. in unseren Lebensmitteln bei gegrilltem Fleisch oder bei der Herstellung von Kartoffelchips durch den Röstprozess. Die Identifikation von Mutagenen ist sehr wichtig, da sie krebsauslösend sein können.

2.1 Beschreiben und erklären Sie den Versuchsaufbau des Ames-Tests (Material 6).
(9 BE)

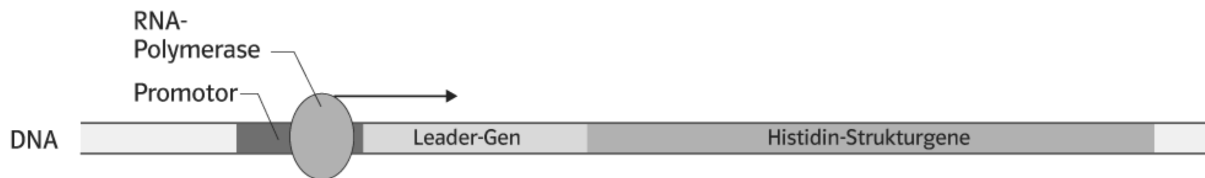
2.2 Werten Sie die Ergebnisse des Ames-Tests aus und erklären Sie die Eignung dieses Verfahrens zur Bestimmung der Mutagenität einer Substanz (Material 6).
(8 BE)

2.3 Fassen Sie die in Abbildung 7.1 (Material 7) dargestellten Auswirkungen von Mutagenen auf DNA-Ebene zusammen und leiten Sie daraus eine mögliche Folge für den Organismus ab.
(8 BE)

2.4 Die chemische Struktur mutagener Substanzen ist häufig recht ähnlich (Material 7).
Entwickeln Sie eine Hypothese zur Wirkungsweise mutagener Substanzen auf DNA-Ebene.
(4 BE)

Material 1

Struktur des his-Operons



https://www.klett.de/inhalt/sixcms/media.php/341/Arbeitsblaetter_Kapitel_2-2.pdf (abgerufen am 04.07.21).

Material 2

Einfluss des Nährmediums auf die Konzentration der Histidinol-Phosphatase

Zellen von *Salmonella typhimurium* können auf Nährböden mit und ohne Histidin wachsen. Konzentrationsmessungen des Enzyms Histidinol-Phosphatase, eines der an der Histidinsynthese beteiligten Enzyme, zeigen die folgenden Ergebnisse:

Wachstum von *S. typhimurium* auf	**Konzentration von Histidinol-Phosphatase (relative Werte)**
Vollmedium (mit Histidin)	0,2
Minimalmedium (ohne Histidin)	1,0

geändert nach: https://www.klett.de/inhalt/sixcms/media.php/341/Arbeitsblaetter_Kapitel_2-2.pdf (abgerufen am 04.07.21).

Material 3

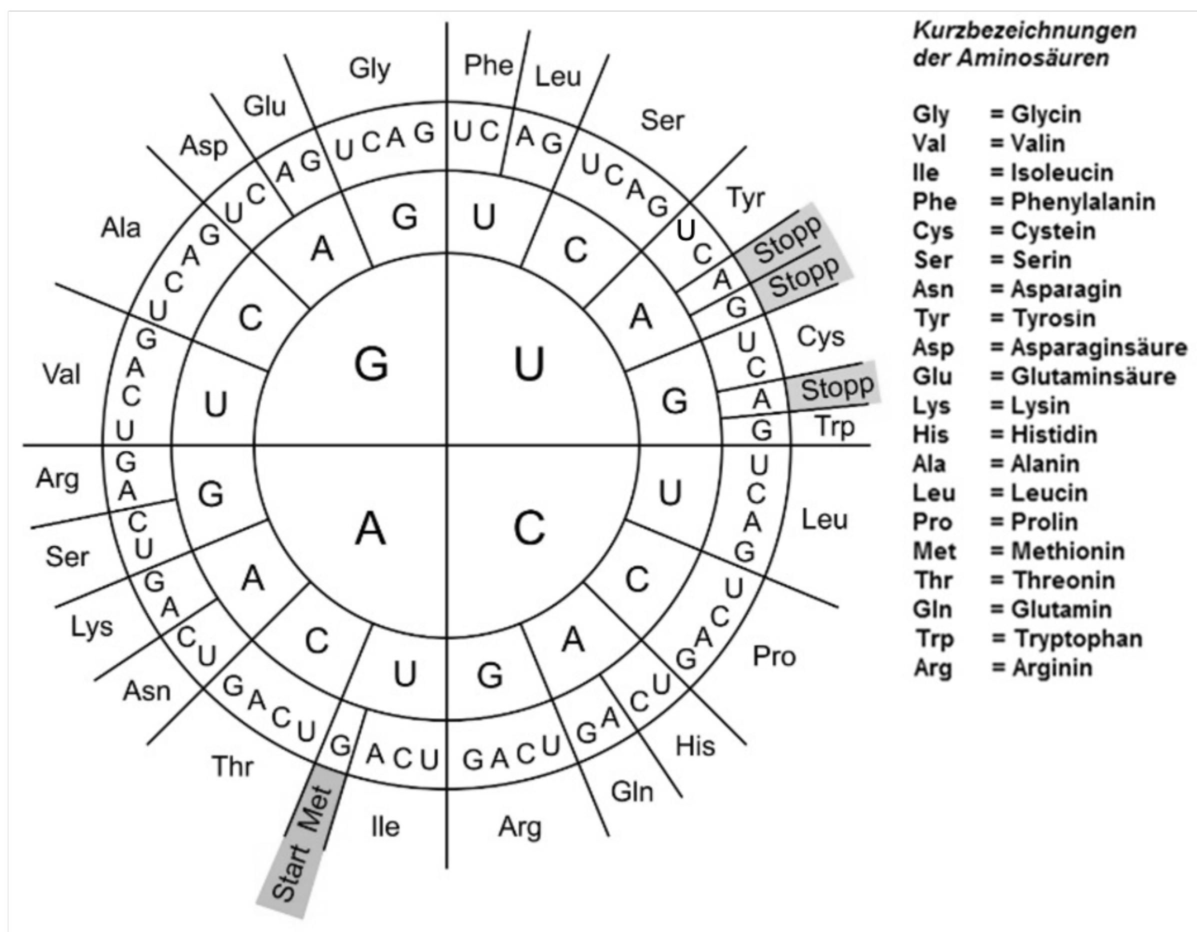
Leader-Gen im his-Operon von *Salmonella typhimurium*

Abbildung 3.1 Ausschnitt aus dem codierenden Strang des Leader-Gens

5´…TTTATGACACGCGTTCAATTTAAACACCACCATCATCACCATCATCCTGACTAGTCT…3´

geändert nach: https://www.klett.de/inhalt/sixcms/media.php/341/Arbeitsblaetter_Kapitel_2-2.pdf (abgerufen am 04.07.21).

Abbildung 3.2 Codesonne

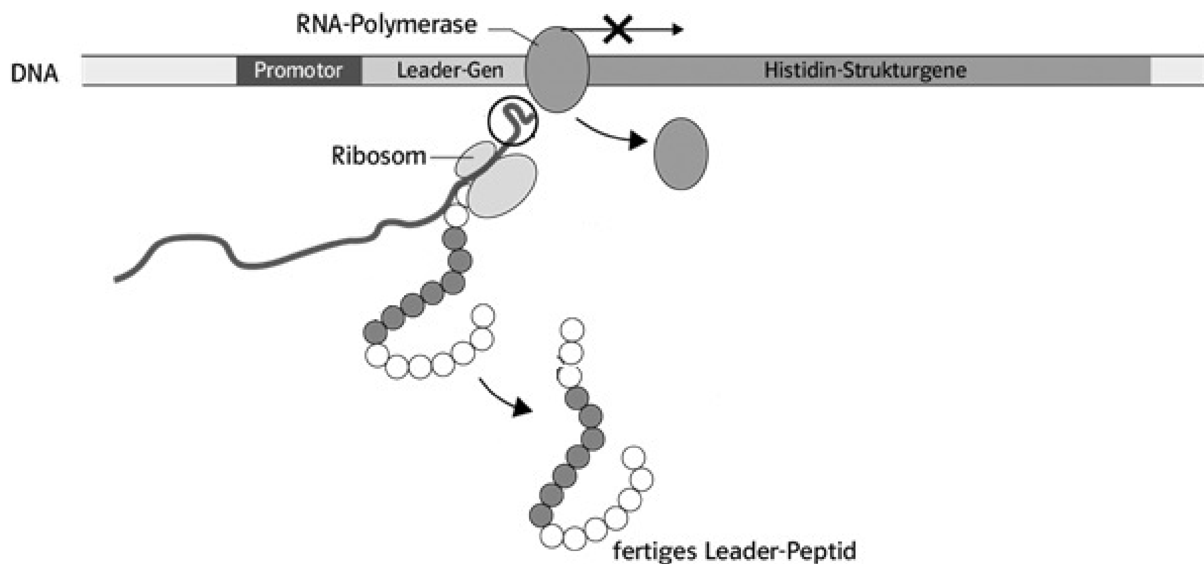


geändert nach: https://www.medi-learn.de/examen/bildarchiv/detail.php?auflage=_7&bilder=&skr=Biologie%201&akt=780 (abgerufen am 23.09.2019).

Material 4

Regulation der Histidin-Synthese (vereinfachte Darstellung)

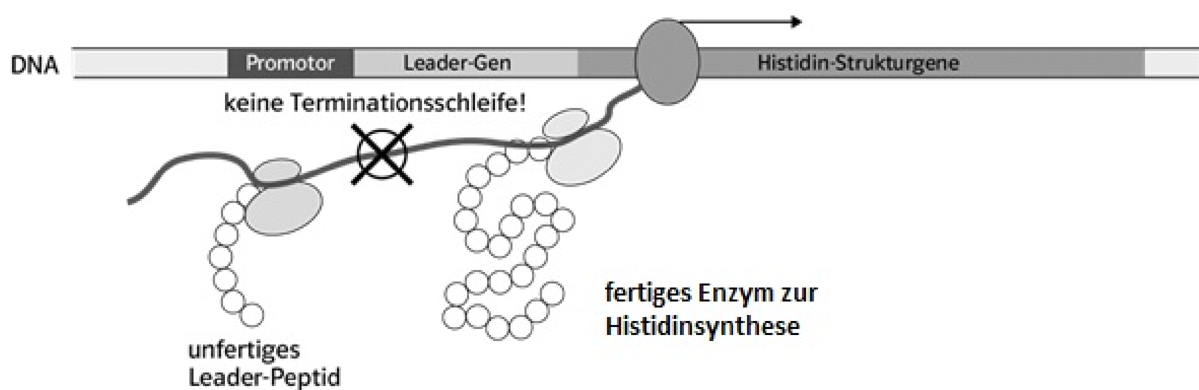
Abbildung 4.1 Funktionsweise des his-Operons bei ausreichend Histidin



Hinweis: ● = Histidinmolekül

geändert nach: https://www.klett.de/inhalt/sixcms/media.php/341/Arbeitsblaetter_Kapitel_2-2.pdf (abgerufen am 04.07.21).

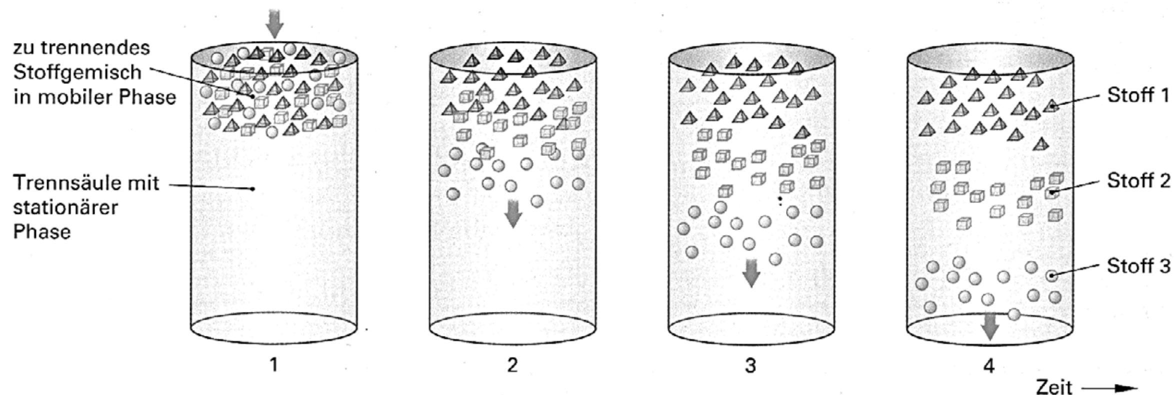
Abbildung 4.2 Funktionsweise des his-Operons bei Histidinmangel



geändert nach: https://www.klett.de/inhalt/sixcms/media.php/341/Arbeitsblaetter_Kapitel_2-2.pdf (abgerufen am 04.07.21).

Material 5

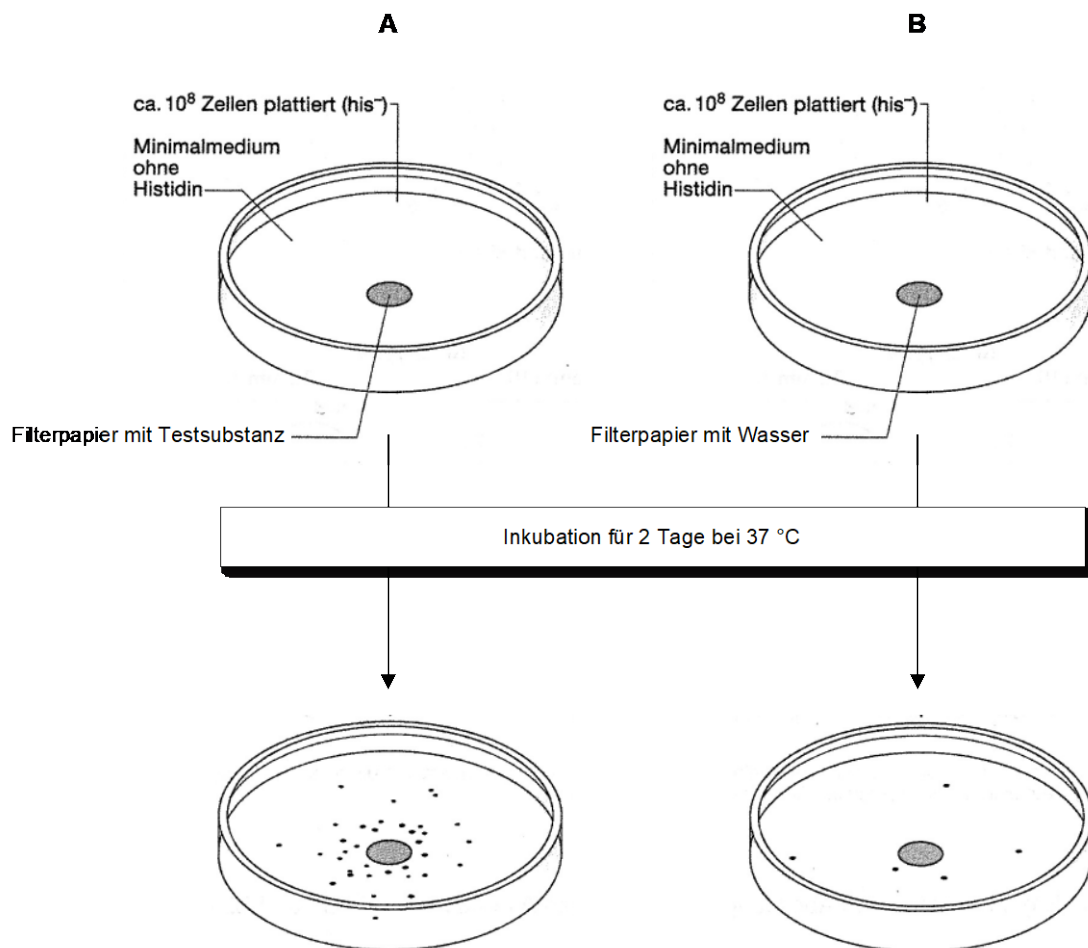
Verfahren zur Produktaufreinigung im biotechnischen Produktionsprozess



C.-D. Paul, A. Rotthues: Fachwissen Biologie und Biotechnik, 1. Auflage 2012, S. 193.

Material 6

Ames-Test: Allgemeiner Versuchsaufbau und Ergebnisse

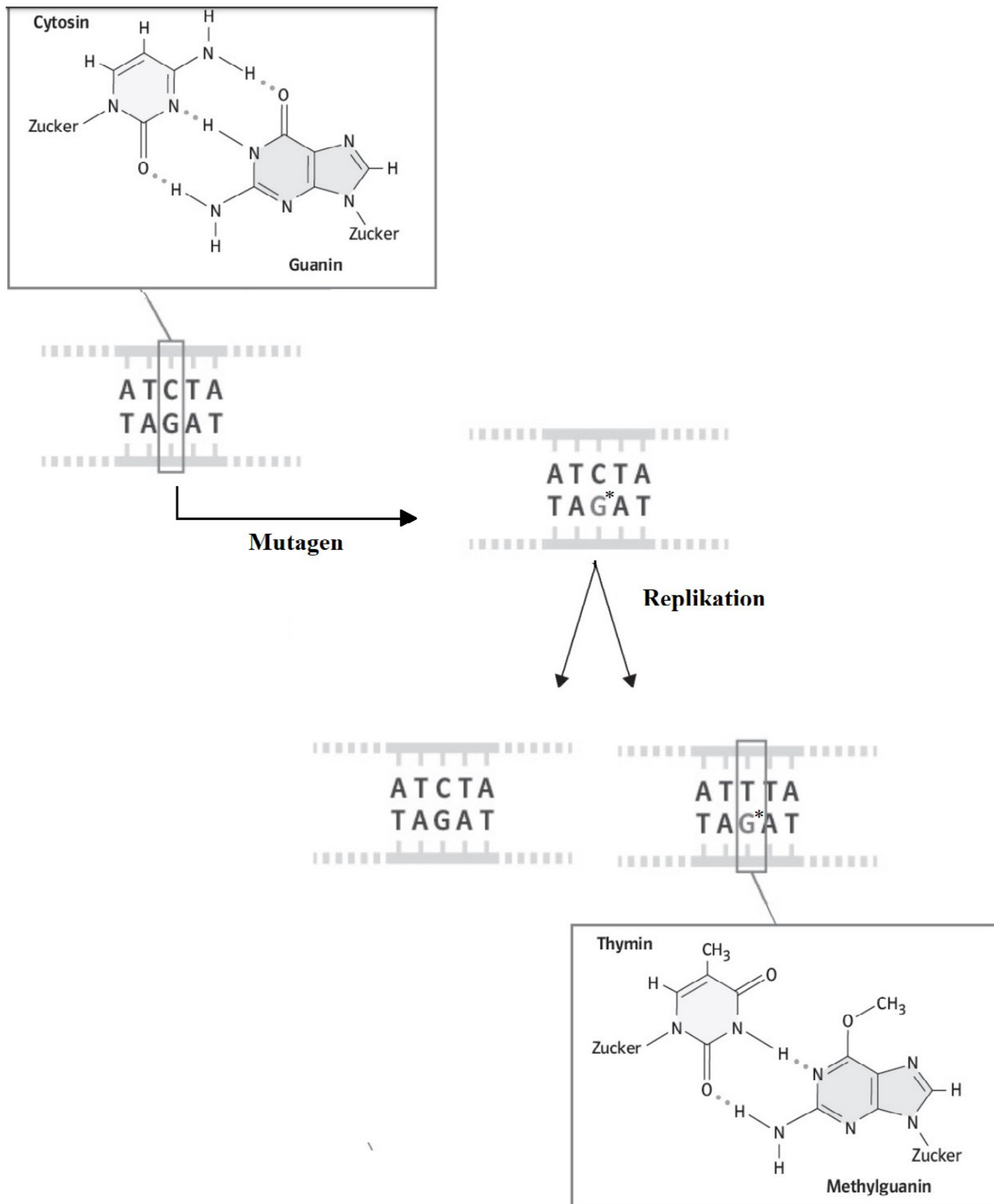


geändert nach: Dr. M. Kampf, Dr. E. Philipp, A. Starke, C. Wendel (Hrsg.): Biologie heute entdecken SII Lehrermaterialien Teil 1, Braunschweig 2006, S.195.

Material 7

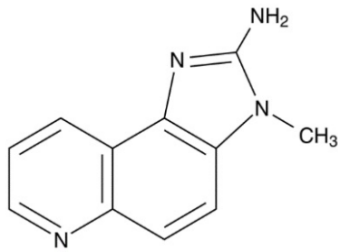
Struktur und Eigenschaften von Mutagenen

Abbildung 7.1 Auswirkung eines Mutagens auf DNA-Ebene

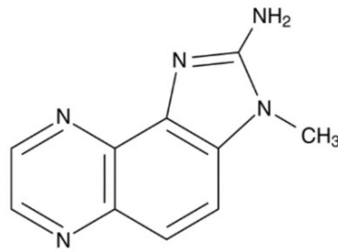


geändert nach: https://www.klett.de/inhalt/sixcms/media.php/341/Arbeitsblaetter-Mgenetik.pdf (abgerufen am 12.07.21).

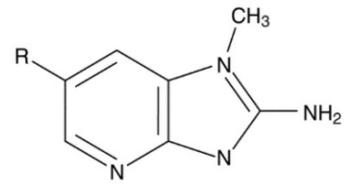
Abbildung 7.2 Struktur verschiedener mutagener Substanzen



Mutagen A



Mutagen B



Mutagen C

geändert nach: Dr. I. Beyer, D. Eckebrecht, Dr. H. Schneeweiß: Natura Genetik und Immunbiologie, Lehrerband, 1. Auflage 2005, S. 51.